



# Preparation of Gold Nanoparticles and Their Surface Modification for Biomedical Applications

著者	Li Jingchao
発行年	2017
その他のタイトル	バイオメディカルへの応用のための金ナノ粒子の作製及び表面修飾
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2016
報告番号	12102甲第8059号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/00148151">http://hdl.handle.net/2241/00148151</a>

氏 名	Jingchao Li
学 位 の 種 類	博 士 (工学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 8059 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 29 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
審 査 研 究 科	数 理 物 質 科 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	Preparation of Gold Nanoparticles and Their Surface Modification for Biomedical Applications (バイオメディカルへの応用のための金ナノ粒子の作製及び表面修飾)

主 査	筑波大学教授(連係大学院)	博士(工学)	陳 国平
副 査	筑波大学教授	工学博士	金 熙榮
副 査	筑波大学准教授(連係大学院)	博士(工学)	田口 哲志
副 査	筑波大学准教授(連係大学院)	博士(工学)	荏原 充宏

## 論 文 の 要 旨

本論文は、大きさや形状を制御した金ナノ粒子の表面を機能性高分子で修飾したナノマテリアルが、がん細胞や幹細胞の増殖や分化などに与える影響を明らかにし、さらにその原因を考察したものである。

第 1 章は、研究背景として、バイオメディカル分野におけるナノマテリアルの応用、ナノマテリアルと細胞との相互作用、金ナノマテリアルの現状が先行研究に基づいてまとめられている。そしてこれらの背景を踏まえ、本論文の研究全体を貫く目的が述べられている。

第 2 章では、がん細胞をターゲティングする機能を付与したがん光熱治療用の星型金ナノ粒子(金ナノスター)の作製及びがん細胞との相互作用について述べられている。粒径が 100 nm の金ナノスターを合成し、その表面をアルブミン - 葉酸コンジュゲート化合物で修飾した。これにより、修飾金ナノスターは水溶液中でよく分散し、葉酸レセプターが過剰に発現しているがん細胞(Hela 細胞)に対して特異的なターゲティング機能を示した。実験に使用した濃度(0.6 mM 以下)では、金ナノスターによる細胞毒性はなく、細胞増殖に影響はなかった。細胞に取り込まれた金ナノスターは赤外光照射により発熱し、がん細胞の活性を低下させ、細胞死を招くことを明らかにしている。このように、金ナノ粒子を表面修飾することにより、水溶液中での分散安定性向上とがん細胞ターゲティング機能が実現し、本章で得られた金ナノ粒子は光熱治療への応用が期待される。

第 3 章では、大きさと形状が異なる金ナノ粒子による骨髄由来の間葉系幹細胞の骨分化や脂肪分化などの機能への影響について述べられている。まず、直径 40, 70, 110 nm の球状(ナノスフェア)、星型(ナノスター)及び棒状(ナノロッド)の 9 種類の金ナノ粒子を作製した。金ナノ粒子を水溶液中で分散安

定化させるためにアルブミンによる表面修飾を行った。そして、この修飾金ナノ粒子を幹細胞の培地に添加し、幹細胞への取込み、細胞増殖及び分化を調べた。細胞への取り込み量は金ナノ粒子の形状と大きさに依存したことを明らかにしている。直径 40 nm、70 nm の各ナノスフェアと長軸長 70 nm のナノロッドでの存在下で培養した幹細胞は他の金ナノ粒子で培養した幹細胞に比べて、有意に高いアルカリホスファターゼ活性、カルシウム沈着量及び骨マーカー遺伝子の発現量を示した。これに対して、40 nm のナノロッドを添加して培養した幹細胞のアルカリホスファターゼ活性、カルシウム沈着及び骨マーカー遺伝子の発現は最も抑制されたことを明らかにしている。

第 4 章では、最近注目されている直径 10 nm 未満の金ナノ粒子による間葉系幹細胞の骨分化及び脂肪分化への影響について述べられている。片末端がメトキシ化されたポリエチレングリコール (PEG) で修飾した 10 nm 未満の金ナノスフェアを合成し、間葉系幹細胞の培地に添加し、その骨分化と脂肪分化への影響を調べた。その結果、コントロールの 40 nm の金ナノスフェアに対し、10nm 未満の金ナノ粒子は異なる効果を示した。すなわち、10 nm 未満の金ナノ粒子は間葉系幹細胞のアルカリホスファターゼ活性、カルシウム沈着及び骨マーカー遺伝子の発現を抑制したが、脂肪滴の形成及び脂肪マーカー遺伝子の発現を促進した。一方、40 nm の金ナノスフェアはその逆の効果を示した。10 nm 未満の金ナノ粒子が間葉系幹細胞の骨分化と脂肪分化に与える影響は、金ナノ粒子による細胞内の活性酸素レベルの上昇によるものと考察している。

第 5 章では、RGD ペプチドで修飾した金ナノ粒子を利用して幹細胞の微小環境を模倣することにより、細胞微小環境が間葉系幹細胞の軟骨分化や骨分化、脂肪分化などの機能に与える影響について述べられている。直径 40 nm の金ナノスフェアの表面を RGD ペプチドと PEG で修飾し、RGD ペプチドと PEG の割合を調整することにより、RGD 密度が異なる金ナノ粒子を作製した。これを用いて間葉系幹細胞を培養し、間葉系幹細胞から軟骨細胞、骨細胞、脂肪細胞への分化を調べた。その結果、RGD ペプチド修飾金ナノ粒子は軟骨分化を促進したが、骨分化を阻害した。RGD ペプチド密度が低い金ナノ粒子は間葉系幹細胞の脂肪分化を阻害したが、金ナノ粒子表面の RGD ペプチド密度は高くなると脂肪分化は促進された。RGD ペプチドで修飾した金ナノ粒子が間葉系幹細胞の機能への影響はナノ粒子と細胞表面のインテグリンとの相互作用及びそれに起因する細胞骨格の変化によると考察している。

第 6 章では、これまでに述べた内容の総括と今後の展望について述べられている。大きさ、形状及び表面修飾基を制御した金ナノ粒子を利用し、がん細胞や間葉系幹細胞の機能を制御することが可能となった。研究結果はがん治療及び幹細胞機能制御のための材料設計の指針として役立つと述べられている。

## 審 査 の 要 旨

〔批評〕

本論文は、金ナノ粒子の表面修飾、および粒子の大きさ・形状制御といった材料化学的手法を用いて、がん細胞や幹細胞の機能に及ぼす影響を明らかにしたものである。まず、100 nm の金ナノスターをアルブミン - 葉酸コンジュゲート化合物で表面修飾し、水溶液中での分散安定性を確認したのち、がん細胞

へのターゲティング機能、細胞毒性、赤外光照射による光熱変換機能、及びがん細胞の殺傷効果を調べた。その結果、金ナノ粒子を表面修飾することにより、上記の各機能についてコントロールと比較していずれも良好なデータが得られた。また、大きさ(40, 70, 110 nm)と形状(球、スター、ロッド)が異なる金ナノ粒子を合成し、その存在下で間葉系幹細胞の骨分化や脂肪分化を調べた。得られた結果にもとづき、これらの分化への影響は金ナノ粒子の大きさと形状に依存すると結論づけている。金ナノ粒子の大きさを 10 nm 未満とさらに小さくして間葉系幹細胞の骨分化及び脂肪分化への影響を調べたところ、40 nm の金ナノ粒子とは逆の効果を示すという非常に興味深い現象も発見した。さらに、細胞外マトリックスの微小環境を模倣するために、金ナノ粒子の表面に異なる密度の RGD ペプチドで修飾し、ペプチド密度が間葉系幹細胞の骨分化や脂肪分化に与える影響を明らかにしている。これらの研究成果は、金ナノ粒子の大きさ、形状、および表面の化学的性質をデザインすれば、がん細胞及び幹細胞の機能を制御できることを示しており、バイオメディカル材料の設計・作製において重要な学術的貢献を果たすものである。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として十分な学術的価値をもつものと認める。

#### 〔最終試験結果〕

平成29年2月14日、数理物質科学研究科学学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

#### 〔結論〕

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。